чинаться при первых признаках болезни. При соблюдении этих требований мы достигли 95-100% эффективности. Условно-здоровые поросята помета подвергаются профилактическому лечению поливалентной гипериммунной сывороткой однократно и дачей внутрь с кормом триметасула в дозе 1 мл на 10 кг массы в течение трех дней подряд один раз в день, С профилактической целью поливалентной сывороткой обрабатывают поросят и в других станках того же возраста. С целью предотвращения колибактериоза у новорожденных с большим успехом использовали поливалентную вакцину против сальмонеллеза, колибактериоза, клебсиеллеза и протейной инфекции (свиноматкам в возрасте 80-85 дней супоросности). Вакцина вводилась внутримышечно, двукратно с интервалом 10 дней в дозах, указанных в инструкции по применению вакцины. С профилактической целью отечной болезни поросят применяли вакцину Коливак-88 двукратно: первая вакцинация в возрасте 35-40 дней, повторная через 14 дней с таким расчетом, чтобы вторая вакцинация была закончена за 5-7 дней до отъема.

Предложенная схема вакцинации супоросных свиноматок и поросят позволила свести до минимума появление колибактериоза в разных формах проявления.

SUMMARY

The suggested by the authors — method vaccination sows in farrowing and pigs minimized infection with Escherichiosis in the different kinds of manifestation.

И.Б. Павлова, В.С. Зуев

(Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии)

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА САЛЬМОНЕЛЛ ПРИ ОБИТАНИИ ИХ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

При переходе во внешнюю среду из организма человека или животного, при резком изменении условий существования в этой среде, патогенные бактерии с помощью различных сенсорных и регуляторных механизмов перестраивают работу своего генетического аппарата, что позволяет им сохранять жизнеспособность и переходить в состояние «спячки», которая выражается во временной потере воспроизводимости бактерий [7]. По мнению ряда авторов, подобные явления связаны с проявлением гетероморфизма клеток, свойственного процессу L-трансформации [2]. Гетерогенность популяции увеличивает ее адаптивные возможности в меняющихся условиях среды обитания. При этом у бактерий может происходить частичная или полная потеря тех или иных биологических (культурально-морфологических, биохимических и др.) свойств, с чем и связывают процесс замедления или отсутствия их роста на питательных средах.

Как известно, определение таксономического положения выделенных патогенных и условно-патогенных бактерий включает три основных этапа: посев исследуемого материала на чашки с дифференциально-диагностическими средами, снятие отдельных колоний и накопление чистой культуры с первичной дифференциацией на комбинированных питательных средах, а затем полная идентификация выделенной культуры по комплексу биохимических признаков, антигенной структуре, отношением к специфическим бактериофагам и антибиотикам. Время проведения анализа составляет от 72 часов до 4-5 суток.

В настоящее время с целью ускорения проведения исследования усовершенствован 3-й этап анализа - идентификация выделенных микроорганизмов путем инокуляции культуры в пробирки, содержащие субстраты и индикаторы. Примером таких тест-систем могут быть системы с высушенными субстратами в микроемкостях в виде специальных планшетов («Микро-Ла-тест» фирмы «PLIVA-Lachema», ПБДЭ Нижегородского НИИЭМ, МТС-сальм НПО «Питательные среды» г. Махачкала и др.).

Однако, идентификация сальмонелл в пробах воды поверхностных водоемов может вызывать затруднения, поскольку имеются данные литературы об атштич-

ных биохимических свойствах у представителей одного и того же серовара сальмонелл. Помимо этого, установлено, что сальмонеллы гораздо более устойчивы к длительному существованию в воде, чем такие санитарно-показательные микроорганизмы, как, эшерихий, энтерококки и группа термотолерантных колиформных бактерий.

Эти факты указывают на то, что мониторинг качества воды по индикаторным показателям и установленным критериям оценки не всегда гарантирует отсутствие сальмонелл, а, как известно, выживание сальмонелл тифа и паратифов в воде свидетельствует об эпидемической опасности водного объекта и согласно законодательству, определяет его непригодность в качестве источника для водоснабжения [1].

Таким образом, проблема выживания сальмонелл в водной среде является актуальной, а методы их идентификации несовершенными. На этом основании нами были проведены исследования по изучению биохимических свойств сальмонелл в водной среде при длительном обитании и воздействии на них неблагоприятных факторов, с использованием микротестсистемы для биохимической идентификации сальмонелл МТС-сальм НПО «Питательные среды» г. Махачкала.

Методика. В опытах использовали штаммы *Salmonella typhimurium* №1951, *Salmonella dublin* №2187, полученные из коллекции лаборатории санитарной микробиологии ВНИИВСГЭ, а также культуру сальмонелл, выделенную из проб р. Ока в весенний период года.

Для проведения экспериментальных исследований по моделированию существования *S.typhimurium* в воде *in vitro* использовали автоклавированную водопроводную воду, соответствующую критериям санитарного законодательства по контролю качества питьевой воды централизованного водоснабжения, а также гигиеническим требованиям к охране поверхностных вод [4].

Выделение культуры сальмонелл проводили из проб воды р. Ока с использованием методов накопления культуры в средах обогащения с последующим пересевом их на плотные селективные среды согласно «Методическим указаниям по санитарно-микробиологическому анализу воды поверхностных водоемов» [1]. Принадлежность выделенной культуры к бактериям рода Salmonella определяли методом ДНК-гибридизация, в результате чего было показано, что выделенная культура микроорганизмов относится к бактериям рода Salmonella, сероварианту *typhimurium*.

Для получения колоний сальмонелл в S-форме осуществляли пересев культуры до 7-8 раз с жидких обогатительных сред (селенитовый бульон и магниевая среда) на селективную среду висмут-сульфит агар (ВСА).

Биохимические свойства сальмонелл определяли ускоренным методом с использованием микротестсистемы для биохимической идентификации сальмонелл МТС-сальм (НПО «Питательные среды»).

Для определения биохимических свойств S.typhimurium после каждого срока экспозиции (1 неделя, 2 и 6 месяцев) взвесь клеток в воде в концентрации 10^9 КОЕ/мл вносили дозаторной пипеткой (UNIPIPETE100) по 0,1 мл в каждую ячейку контейнера МТС-сальм, включающего набор из семи тестов по утилизации глюкозы, инозита, арабинозы, рамнозы, ксилозы, цитрата натрия и обнаружению сероводорода.

Для определения биохимических свойств культур сальмонелл, выделенных из исследуемых проб воды, готовили взвесь клеток с мясо-пептонного агара в концентрации 10' КОЕ/мл на физиологическом растворе. Взвесь клеток объемом по 0,1 мл вносили в каждую ячейку контейнера.

Для создания анаэробных условий ячейку для обнаружения сероводорода заполняли доверху стерильным вазелиновым маслом. Контейнер закрывали и выдерживали в термостате при температуре (37+1)° С в течение (20±2)ч. По окончании экспозиции производили визуальный учет результатов в соответствии с цветовым указателем, приложенным к инструкции.

ДНК-гибридизация, С целью идентификации сальмонелл, выделенных из проб воды поверхностного водоема, проводили ДНК-диагностику культуры путем определения уровня гомологии в ДНК методом оптической реассоциации по Де Лею (гибридизация ДНК) [5].

В качестве тест-культуры использовали сальмонеллы, выделенные из проб воды поверхностного водоема; в качестве референтных штаммов - музейные штаммы *S.typhimurium* и *S.dublin.* Перед реакцией проводили выделение и очистку ДНК, а также определение ее иуклеотидного состава, После реакции гибридизации производили математический расчет сходства в полинуклеотидных последовательностях ДНК референтных штаммов и тест-куль-

Таблица 1

Изучение биохимических свойств S.typhimurium в воде

	Биохимические тесты / Сроки и температура [illegible]	Утилизация глюкозы	Утилизация инозита	Утилизация арабинозы	Утилизация рамнозы	Утилизация ксилозы	Утилизация цитрата натрия	Выделение сероводорода
26^0C	1 неделя. 26^0C	+	+	+	+	+	+	+
	2 месяца. 26^0C	+	+	+	−	+	−	+
	6 месяцев. 26^0C	+	−	+	−	+	−	−
10^0C	1 неделя. 10^0C	+	+	+	−	+	−	+
	2 месяца. 10^0C	+	+	+	−	+	−	−
	6 месяцев. 10^0C	+	+	+	−	+	−	−

+ реакция положительная; − реакция отрицательная.

туры сальмонелл.

Результаты и обсуждение. Изучение биохимических свойств популяции клеток *S.typhimurium* в пробах воды при температуре 26° С показало, что их изменение начиналось со 2-го месяца эксперимента и проявлялось отсутствием ферментативной активности сальмонелл в отношении тестов на утилизацию рамнозы и цитрата натрия. В дальнейшем, с увеличением сроков пребывания сальмонелл в воде, угнетение их биохимических свойств нарастало и через 6 месяцев, наряду с угнетением ферментативной активности в отношении рамнозы и цитрата натрия, отмечалось отсутствие реакции на утилизацию инозита и выделение сероводорода.

Аналогично данному исследованию проведено изучение биохимической активности сальмонелл в воде при температуре 10° С.

Через 1 неделю эксперимента отмечали угнетение ферментативной активности сальмонелл в воде в отношении тех же субстратов (рамнозы и цитрата натрия), что и при температуре 26° С. На более поздних сроках пребывания сальмонелл в воде (2 и 6 месяцев) угнетение ферментативной активности нарастало и, помимо рамнозы и цитрата натрия, отмечали отрицательную реакцию в тесте на выделение сероводорода.

Следует отметить, что на протяжении всего эксперимента сальмонеллы сохраняли способность утилизировать глюкозу, арабинозу и ксилозу, что указывает на высокую стабильность данной ферментативной активности у сальмонелл, в процессе их выживания в воде (табл. 1).

Изучение биохимических свойств выделенных из проб воды сальмонелл показало, что они не утилизировали инозит, рамнозу и цистеин. при этом, способность утилизировать глюкозу, арабинозу и ксилозу была стабильной аналогично сальмонеллам, обитающим в воде в экспериментальных условиях (рис. 1).

Таким образом, результаты изучения биохимических свойств сальмонелл выделенных из воды отличались от стандартной схемы типирования этих микроорганизмов. Изменение их ферментативной активности наблюдалось в отношении *инозита, рамнозы* и *цистеина* (реакция на выделение сероводорода), наряду со стабильностью биохимических свойств сальмонелл в отношении *глюкозы, арабинозы* и *ксилозы.* Изменения ферментативной активности у культуры, выделенной из проб воды поверхностного водоема, имели сходства с изменениями ферментативной активности у музейной культурой сальмонелл в эксперименте,

В результате проведенных исследований было показано, что одним из факторов выживания популяций сальмонелл в водной среде является их изменчивость по биохимическим признакам, обеспечивающая им жизнеспособность и устойчивость к воздействию различных абиотических

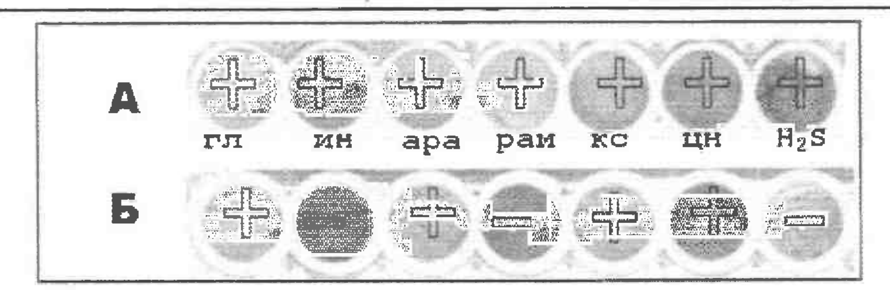


Рис. 1. Изучение ферментативной активности сальмонелл, выделенных из речной воды в микротестсистеме МТС-сальм

А. ферментативная активность по стандартной схеме типирования сальмонелл;
Б. ферментативная активность сальмонелл, выделенных из воды весной.

ГЛ – глюкоза; **ИН** – инозит; **АРА** – арабиноза; **РАМ** – рамноза; **КС** – ксилюза; **ЦН** – цитрат натрия; H_2S – реакция на выделение сероводорода.

факторов водной среды. Снижение ферментативной активности замедляет процессы метаболизма, что способствует сохранению жизнеспособности клеток в условиях голодания. Данные литературы и проведенные нами экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что выживаемость сальмонелл в воде сопровождается изменением их свойств, гетероморфизмом, резким снижением ферментативной активности и замедленной энергией роста [2]. Данными наших исследований показано, что выживание популяции сальмонелл в воде также влечет за собой изменение биохимических свойств как у музейной культуры при воздействии на нее температурного фактора, так и у сальмонелл, выделенных из проб воды в естественных условиях среды обитания. Интересен тот факт, что отсутствие ферментативной реакции в отношении субстратов инозит, рамноза и цистеин было свойственно как музейной, так и культуре сальмонелл, выделенной из проб воды поверхностного водоема, что свидетельствовало о закономерностях процесса адаптации популяций сальмонелл как в эксперименте, так и в естественных условиях.

По мнению ряда исследователей, существует тесная связь между анаболическими и катаболическими путями метаболизма [6]. В этой связи, интересен тот факт, что инозит - шестиатомный сахароспирт, который утилизируется сальмонеллами, принимает участие в цикле синтеза фосфолипидов клеточной стенки микроорганизмов, выполняя транспортную функцию клетки. Учитывая данные литературы можно полагать, что отсутствие ферментативной реакции на утилизацию инозита у сальмонелл обусловлено дефектностью клеточной стенки вследствие перехода популяции в гетероморфизм с последующей L-трансформацией под воздействием абиотических и биотических факторов. Углевод рамноза, который бактерии рода Salmonella также способны разлагать, входит в состав полисахаридных компонентов липополисахаридов клеточной стенки, которые, к тому же, обладают О-антигенной специфичностью сальмонелл, при этом рамноза является О-специфичным сахаром. Интересен тот факт, что полисахариды клеточных стенок сальмонелл, образующих шероховатые колонии, не содержат концевых остатков, в состав которых входит рамноза [6], а, как известно, образование шероховатых колоний связано с наличием в них клеток, находящихся на стадии гетероморфизма, у которых дефектна клеточная стенка [3]. По наличию остатков некоторых моносахаров, в число которых входит L-рамноза, можно отличить полисахаридный компонент липополисахарида клеточной стенки R- и S-форм сальмонелл.

Изучение биохимических свойств популяции сальмонелл в воде как в эксперименте, так и у выделенных из проб поверхностного водоема показало, что ферментативная активность в отношении глюкозы, арабинозы и ксилозы оставалась стабильно положительной, что свидетельствовало

о важной роли этих ферментов в жизненном цикле популяций сальмонелл в водной среде.

В отношении глюкозы, имеются данные литературы о том, что ферментация этого углевода является стабильным и устойчивым признаком, заложенным в геноме клетки. На этом основании, биохимическая активность в отношении глюкозы принята в качестве основного таксономического теста бактерий семейства Enterobacteriaceae во всех международных классификациях, а также определяет высокую устойчивость данного показателя у такой группы санитарно-показательных микроорганизмов, как глюкозоположительные колиформные бактерии.

Таким образом, эффективность санитарно-эпидемиологического контроля водных объектов должна базироваться не только на соблюдении существующих микробиологических критериев оценки качества воды в документах санитарного законодательства, но и на фундаментальных исследованиях, способствующих совершенствованию индикации патогенных и потенциально патогенных мйкроорганизмов в водных экосистемах.

РЕЗЮМЕ

Показано, что воздействие неблагоприятных факторов среды обитавия (температура и длительность пребывания в воде) приводит к изменению биохимических свойств сальмонелл, что создает трудности их идентификации в пробах воды.

Литература

1. Методические указания но санитарно-микробиологическому анализу воды поверхностных водоемов. М.: МинЗдрав СССР, 1981;
2. Павлова И.Б., Зуев В.С. Состояние популяции Salmonella typhimurium в водной среде под влиянием температуры. // ЖМЭИ. №5. 2004. С. 33-36;
3. Павлова И.Б. Закономерности развития иопуляций бактерий в окружающей среде (электронно-микроскопическое исследование). Дисс. докт. биол. наук.М.,1999;
4. Санитарное законодательство. Санитарные правила и нормы. СанПин 2.1.5,980-00;
5. DeLey X, Cattoir H., Reynaerts A. The quantitative measurement of DNA hybridization from renaturation rates.//Eur.J.Biochem., 1970.12. E 133-142;
6. Rose A.H. Chemical microbiologv (Second edition). London Butterworths, 1968;
7. Roszak D. B., Grimes D. X, Colwell R. R. Viable but nonrecoverable stage of Salmonella enteritidis in aquatic systems. // Can. X Microbiol. 1984. V 30. p. 334-338

А.В. Пашкин, А.М. Холодоенко, Е.К. Колосков

(ФГОУ ВПО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия», ОАО «Птицефабрика Сеймовская»)

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ НОЗОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ИНФЕКЦИОННОЙ И ИНВАЗИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ПТИЦ В РАЗЛИЧНЫХ ПРИРОДНЫХ ЗОНАХ РФ

В стране за последние годы по ряду объективных причин снизилась эффективность противоэпизоотического обеспечения животноводства, в т.ч. и птицеводства, в хозяйствах с различными формами собственности и технологии. До сих пор в птицеводстве не изжиты инфекционные и инвазионные болезни птиц.

В промышленном птицеводстве ветеринарное обеспечение является важным технологическим приемом, при этом особое место занимают иммунопрофилактика и терапия, направленные на повышение устойчивости птиц к возбудителям различных заболеваний, в том числе и инвазионных.

Материалы и методы исследований

В сравнительном аспекте и в динамике изучили заразную патологии птиц в регионах и сравнили с нозологическим профилем суммарной патологии птиц в промышленном птицеводстве.

В работе использован статистический материал о заболеваемости птицы в РФ, любезно предоставленный нам Росптицесоюзом через систему «Интернет»,

Результаты исследований

На рис 1. представлены показатели от-